

Systems biology approaches applied in mass spectrometry imaging

Citation for published version (APA):

Scupakova, K. (2020). *Systems biology approaches applied in mass spectrometry imaging*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. ProefschriftMaken. <https://doi.org/10.26481/dis.20201202ks>

Document status and date:

Published: 01/01/2020

DOI:

[10.26481/dis.20201202ks](https://doi.org/10.26481/dis.20201202ks)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Understanding of cellular processes, their regulation and their coordination are the prime objectives of molecular biology. With advances in technology, the highly interdisciplinary field of systems biology has emerged. The aim of systems biology is to combine mathematical and biological tools to study biological systems in a holistic manner. To fulfill the holistic approach of systems biology, technologies are needed that obtain information on all involved molecules at the same time in a multiplexed fashion, preferably in a spatially resolved manner.

One of these is mass spectrometry imaging (MSI), a novel, powerful research tool for tissue-based biomedical research questions that require spatially resolved molecular analysis. Unlike targeted imaging (e.g., immunohistochemistry), MSI can detect hundreds of molecules simultaneously in a single experiment with no prior knowledge of the detected analytes. As a result, this technology has become an excellent systems biology tool for mapping the molecular composition directly from tissue while preserving spatial morphology.

This thesis presents various efforts to integrate MSI data with other imaging or non-imaging data sources in order to investigate systematically the complex tissue biology in health and disease. First, we present new mathematical tools and algorithms to push the limits of spatial resolution beyond the current

MSI capabilities. Next, we integrate open-source digital pathology software tools to allow for precise and automated annotation of microscopy slides and develop novel workflows that allow transfer of the annotations onto and integration with the MSI data. Finally, we show how MSI complemented by pathological evaluation can be further corroborated by data from external molecular datasets such as gene expression or immunohistochemistry. For example, MSI combined with extensive pathology annotation enabled spatially differentiated cell-based analysis of N-glycosylation patterns in metastatic BC and showed high-mannose abundance increase during metastatic progression in 71% of patients, across BC subtypes and treatment regimens. These findings emphasize the clinical importance of high-mannose, fucosylated, and complex N-glycans as future diagnostic markers and therapeutic targets in metastatic BC. In another study, we evaluated local lipid profile changes by MSI in progressive stages of steatosis in non-alcoholic fatty liver disease and showed that steatotic tissue was characterized by a clearly distinct lipid composition compared to non-steatotic tissue. This liver steatosis study also demonstrated the need for spatially resolved analysis, as the tissue classifier trained on spatially resolved data showed superior performance.

Taken together, this thesis demonstrates that MSI is a powerful molecular discovery tool for identifying novel therapeutic targets, validating novel diagnostic assays, and enhancing our basic biological understanding of disease processes. MSI is also emerging as a valuable tool for molecular pathology evaluation, which delivers chemical sensitivity and specificity combined with spatial analysis of tissue sections for unprecedented translational research opportunities. MSI, when combined with digital pathology and integrated with other omics technologies, holds great promise of personalized diagnostics by delivering fast, accurate single cell annotation of each and every cell with its unique molecular profile within the tissue.

Beknopte samenvatting¹

De belangrijkste doelstellingen binnen de moleculaire biologie zijn het begrijpen van cellulaire processen, hun regulering, en hun coördinatie. Het interdisciplinaire veld van systeembioïogie heeft als doel om wiskundige en biologische hulpmiddelen te combineren waarmee deze biologische processen op een holistische manier bestudeert kunnen worden. Dit is nu mogelijk door innovatieve technologische ontwikkelingen in de analytische wetenschappen in de afgelopen jaren. Deze holistische aanpak vereist technieken die informatie over alle betrokken moleculen tegelijkertijd, in een gemultiplexte manier, verkrijgen. Dit bij voorkeur met behoud van de ruimtelijke informatie van het weefsel.

Inmiddels is beeldvormende massaspectrometrie (MSI) ontstaan als een nieuwe, krachtige techniek voor weefsel gebaseerde biomedische onderzoeksvragen waarbij het behoud van de ruimtelijke informatie voor de moleculaire analyse van belang is. In tegenstelling tot gerichte beeldvormingstechnieken zoals immunohistochemie, kan MSI honderden moleculen tegelijk detecteren in een enkele meting, zonder dat voorkennis van de analieten noodzakelijk is.

¹The author would like to acknowledge and thank Britt Claes for helping with the translation of the summary from English to Dutch language.

Hierdoor is deze technologie een uitstekende methode geworden binnen systeembioïogie om de lokale moleculaire samenstelling direct van weefsel te analyseren waarbij de ruimtelijke morfologie wordt behouden.

Dit proefschrift presenteert verschillende innovatievs en hun toepassingen waarbij MSI-data met andere beeldvormende en niet-beeldvormende databronnen is geïntegreerd om de complexe weefselbioïogie in gezonde en zieke toestand te onderzoeken. Eerst worden nieuwe wiskundige hulpmiddelen en algoritmes ingezet om de ruimtelijke resolutielimiet van de huidige MSI-mogelijkheden te verleggen. Vervolgens integreren we open-source digitale pathologiesoftware om nauwkeurige en geautomatiseerde cellulaire annotaties van microscopie beelden mogelijk te maken en ontwikkelen nieuwe methodes en algorithmes om deze gedetailleerde annotaties samen te voegen met MSI-data. Ten slotte laten we zien hoe MSI aangevuld kan worden met pathologische evaluaties en met data van externe moleculaire datasets, zoals genexpressie of immunohistochemie. Bijvoorbeeld, MSI gecombineerd met uitgebreide pathologische annotaties maakt het mogelijk om ruimtelijke gedifferentieerde en cel gebaseerde analyse van N-glycosylatiepatronen van uitgezaaide borstkanker te maken. Dit liet een verhoogd mannosegehalte zien gedurende metastatische progressie bij 71% van de onderzochte borstkanker patiënten, ondanks verschillende subtypen en behandelingsregimes. Deze bevindingen benadrukken het klinische belang van hoge-mannose, gefucosyleerde, en complexe N-glycanen als toekomstige diagnostische markers en therapeutische doelen bij uitgezaaide borstkanker. In een andere studie evalueerden we lokale lipidenprofielveranderingen van een progressief stadia van steatose bij niet-alcoholische leververvetting met MSI, waarbij bleek dat steatotisch weefsel werd gekenmerkt door duidelijk verschillende lipiden-samenstellingen vergeleken met niet-steatotisch weefsel. Dit onderzoek naar leversteatose toonde ook de noodzaak aan voor het behoud van ruimtelijke informatie gedurende de analyses, aangezien de weefselclassificatie getraind op gegevens met ruimtelijk informatie superieure prestaties toonde.

Alles bij elkaar laat dit proefschrift zien dat MSI een krachtig moleculair onderzoeksinstrument is, zowel voor het identificeren van nieuwe therapeutische doelen, het valideren van nieuwe diagnostische testen, en het verbeteren van onze biologische basiskennis van ziekteprocessen. Daarnaast is MSI in opkomst als een waardevol hulpmiddel voor moleculaire pathologische evaluaties, die chemische gevoeligheid en specificiteit combineert met ruimtelijke analyse van weefselcoupes met translationele onderzoeksmogelijkheden. In combinatie met

digitale pathologie en geïntegreerd met andere omics-technologieën, is er voor MSI veel toekomst in gepersonaliseerde diagnostiek door snelle, nauwkeurige annotaties van één enkele cel te leveren, met voor elke cel zijn unieke moleculaire profiel.